



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

2012/2013

Andreia Filipa Cardoso Pinto
Neurobiologia dos Comportamentos
Aditivos

março, 2013

FMUP



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

Andreia Filipa Cardoso Pinto
Neurobiologia dos Comportamentos
Aditivos

Mestrado Integrado em Medicina

Área: Psiquiatria e Saúde Mental

**Trabalho efetuado sob a Orientação de:
Doutor Manuel António Fernandez Esteves**

**Trabalho organizado de acordo com as normas da revista:
Jornal Brasileiro de Psiquiatria**

março, 2013

FMUP

Eu, Andreia Filipa Cardoso Pinto, abaixo assinado, nº mecanográfico 200700121, estudante do 6º ano do Mestrado Integrado em Medicina, na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, declaro ter atuado com absoluta integridade na elaboração deste projeto de opção.

Neste sentido, confirmo que **NÃO** incorri em plágio (ato pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão, assume a autoria de um determinado trabalho intelectual, ou partes dele). Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores, foram referenciadas, ou redigidas com novas palavras, tendo colocado, neste caso, a citação da fonte bibliográfica.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 20/03/2013

Assinatura: Andreia Filipa Cardoso Pinto

Nome: Andreia Filipa Cardoso Pinto

Email: mimed07216@med.up.pt

Título da Monografia:

Neurobiologia dos Comportamentos Aditivos

Orientador:

Doutor Manuel Esteves

Ano de conclusão: 2013

Designação da área do projeto:

Psiquiatria e Saúde Mental

É autorizada a reprodução integral desta Dissertação/Monografia (cortar o que não interessar) para efeitos de investigação e de divulgação pedagógica, em programas e projetos coordenados pela FMUP.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 20/03/2013

Assinatura: Andreia Filipa Cardoso Pinto

Para a minha família

Neurobiologia dos Comportamentos Aditivos: Gaba e a Dependência do
Álcool

Neurobiology of addictive behaviour: GABA and Alcohol Dependence

Andreia Filipa Cardoso Pinto¹

¹Aluna do 6º ano, Faculdade de Medicina da Universidade do Porto (FMUP), Porto,
Portugal

Correspondência:

Departamento de Psiquiatria e Saúde Mental

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

AL. Prof. Hernâni Monteiro, 4200 - 319 Porto, PORTUGAL

916384397

mimed07216@med.up.pt

Número total de palavras:5217

RESUMO

Objetivo: O GABA é o principal neurotransmissor inibitório do sistema nervoso central, sendo fulcral para o controlo da hiperexcitação neuronal. Pela sua vasta dispersão deduz-se um grande peso nas funções do sistema nervoso central. O perfil marcadamente gabamimético do consumo agudo de etanol levou à aceitação de que o GABA é ponto chave no desenvolvimento dos sintomas de intoxicação alcoólica bem com no desenvolvimento de dependência. O objectivo deste estudo é explorar as alterações neurobiológicas do GABA, induzidas pelo etanol, num contexto de dependência.

Métodos: A pesquisa bibliográfica centrou-se na base de dados PubMed, com os termos MeSH "alcohol", "addiction", "neurobiology", "GABA", limitando as pesquisas às línguas inglesa e portuguesa, e a revisões publicadas nos últimos cinco anos. Foram incluídos 114 trabalhos nesta revisão.

Resultados: O etanol induz alterações marcadas na configuração dos recetores GABA, levando à intoxicação aguda, a tolerância bem como exacerbação síndrome de abstinência. Estas alterações parecem ser tanto moleculares como genéticas, constituindo um possível futuro alvo terapêutico para o tratamento do alcoolismo.

Conclusões: Os achados da investigação ligando o sistema GABA aos fenómenos clínicos relacionados com o consumo excessivo de álcool abrem portas para a compreensão daqueles fenómenos e poderão estimular a pesquisa em relação a novos paradigmas no tratamento eficaz dos Síndromes de dependência do álcool.

Palavras-chave: Álcool; Dependência, Sistema GABA

ABSTRACT

Objective: GABA is the main inhibitory neurotransmitter working in the central nervous system, making it invaluable in controlling the neurons' hiperexcitation. Because it spreads in all areas of the brain, it is thought to have a great role in the functioning of the central nervous system. The markedly gabamimetic profile induced by acute ethanol ingestion led to the belief that GABA is a key molecule in inducing alcoholic intoxication symptoms, as well as dependence. The main goal of this paper is to explore the neurobiological alterations in GABA system induced by ethanol, in a dependence context.

Methods: The bibliographic review was thought after in PubMed database, including the Mesh terms "alcohol", "addiction", "neurobiology", "GABA", limiting the search to include English and Portuguese articles, as well as reviews published in the last five years. One hundred and fourteen papers were included in this review.

Results: Ethanol induces marked alterations in the assembly of the GABA receptors, leading to tolerance of acute intoxication, as well as aggravation of withdrawal symptoms. This alterations are either molecular as genetic, making them a desirable future therapeutic target to treat alcohol dependence.

Conclusions: The results of the investigation linking the GABA system to the clinical phenomena related to excessive alcohol ingestion open new doors to the understanding of such patterns, and may stimulate the research of new ways to treat effectively the alcohol dependence syndromes.

Key-Words: Alcohol, Dependence, Gaba System

INTRODUÇÃO

Alcoolismo, é uma doença crônica, recidivante, caracterizada por um desejo persistente de obtenção de álcool, perda de controlo sobre o seu consumo, desenvolvimento de tolerância, alterações do funcionamento ocupacional e social, e aparecimento de uma síndrome de abstinência aquando da paragem abrupta do consumo que inclui disforia, alteração dos padrões de sono, aumento da irritabilidade, ansiedade, *delirium tremens* e até a morte(1).

Entre as numerosas definições da problemática do álcool, destaca-se a inovadora definição da Organização Mundial de Saúde que considerou pela primeira vez o *alcoolismo* como *doença* e o *alcoólico* como *doente* referindo-se às suas importantes consequências. Pela sua importância e significado faz-se a sua transcrição:

- alcoolismo: *"doença de natureza complexa na qual o álcool é factor determinante, estendendo-se em vários planos e causando perturbações orgânicas e psíquicas, da vida familiar, profissional e social com repercussões económicas, legais e morais; cujo tratamento engloba processos terapêuticos de grande amplitude"*(2)
- alcoólico: *"bebedor excessivo cuja dependência em relação ao álcool se acompanha de perturbações mentais, da saúde física, da relação com os outros e/ou do comportamento social e económico; deve submeter-se a tratamento"*.(2)

O uso prejudicial do álcool é um fator que contribui significativamente para as taxas de lesão, doença e morte à escala global, sendo responsável por cerca de 2,5 milhões de mortes por ano. O consumo mundial *per capita* (em pessoas com mais de 15 anos) de bebidas alcoólicas rondava, em 2005, os 6,13 litros de álcool puro. A grande maioria do consumo dava-se nos países desenvolvidos, maioritariamente no hemisfério norte(3).

O dano associado com o consumo abusivo passa por um lado por doenças médicas graves como o desenvolvimento de cirrose hepática, carcinomas hepatocelular(4), da boca, laringe, pulmão, cólon e reto pela sua associação secundária ao aumento de consumo de tabaco(5), aumento do risco cardiovascular(6) (ainda que o consumo moderado, entre 20 a 30g por dia, esteja associado a efeitos benéficos do sistema circulatório, nomeadamente a redução o risco de doença coronária em 20-25%(7)) e desenvolvimento de doenças

psiquiátricas associadas à deficiência de tiamina (Síndrome de Wernicke-Korsakoff)(8), ou depressão. Por outro lado resulta no perigo para o próprio ou para terceiros através de comportamentos de risco como a condução sob a influência e consequente aumento do número de acidentes rodoviários graves, agressividade, violência e comportamentos sexuais de risco(9). Comporta ainda um elevado peso social, sendo uma das principais causas de absentismo no trabalho, indicadores de deterioração do estado funcional do indivíduo, associados ao aumento do risco de morte.(10)

Reconhece-se há muito uma componente genética na ordem dos 40-60% para o desenvolvimento de dependência(11), ainda que os genes envolvidos sejam amplamente desconhecidos, sugerindo que polimorfismos genéticos possam suscetibilizar as pessoas ao desenvolvimento de adição.

A dependência do álcool engloba vários mecanismos neurobiológicos, alterando diversos sistemas de neurotransmissores monoaminérgicos entre os quais o glutamato, o ácido gama-amino-butírico (GABA), a dopamina, a serotonina e o sistema opióide (12).

Este artigo pretende sumariar o papel do GABA no sistema nervoso central (SNC), e sublinhar as alterações observáveis no desenvolvimento da dependência do etanol. Procura ainda conhecer em que medida polimorfismos ou mutações genéticas podem influenciar estes mecanismos, e perceber os possíveis moduladores que possam interferir com esse mesmo sistema.

MÉTODOS

Recorreu-se a motor de busca das bases bibliográfica electrónica PubMed e Medline. Nestas bases de dados fizeram-se as seguintes pesquisas: 1) "Gaba ", AND "alcohol" AND "dependence" limitando para artigos com acesso ao texto integral disponibilidade em português ou inglês publicados nos últimos cinco anos. Obtiveram-se 83 artigos. 2) "neurobiology" AND "Gaba receptors" AND alcohol, aplicando as mesmas limitações, somando 20 artigos. 3) "genetics" AND "alcohol dependence" AND "Gaba", somando-se 49 artigos. Após a leitura do resumo dos 157 artigos obtidos, seleccionaram-se aqueles que correspondiam ao objectivo do presente estudo de revisão. Como critérios de exclusão usaram-se: a publicação numa outra língua que não o português ou o inglês, bem como duplicados. Posteriormente fez-se uma pesquisa ativa por artigos relacionados e referências cruzadas, utilizando as fontes bibliográficas dos artigos incluídos, totalizando-se

assim os 114 artigos utilizados neste trabalho. Consultou-se ainda os relatórios "*Global Status Report of Alcohol consumption*" e "*Lexicon of Alcohol and Drug Terms*" publicados pela Organização Mundial de Saúde bem como o livro "*Diagnostic and statistical manual of mental disorders : DSM-IV*" da American Psychiatric Association.

DISCUSSÃO

Sistema GABA

O funcionamento do sistema nervoso central, particularmente do córtex cerebral, resulta da interação equilibrada de dois tipos de sistemas rápidos de neurotransmissores(13): o excitatório (regulado pelo glutamato) e o inibitório (regulado pelo GABA).

Estudos de marcação imunohistoquímica de GABA mostram que este se encontra disperso por todo o sistema nervoso central, sugerindo que está envolvido na grande maioria das suas funções(14). Muitas doenças neurológicas e neuropsiquiátricas, entre elas a Psicose Esquizofrénica(15), a Epilepsia e o Autismo(16), têm como mecanismo fisiopatológico alterações do equilíbrio excitatório/inibitório dos neurotransmissores. Tem também um papel preponderante no desenvolvimento de dependência de numerosas substâncias, nomeadamente etanol(17) e as benzodiazepinas (mecanismo de co-transporte).

Pela sua universalidade de funções, o sistema gabaérgico é ainda o alvo terapêutico de grandes grupos de fármacos, largamente utilizados como os ansiolíticos(18), hipnóticos, anestésicos e anticonvulsivantes(19).

Cedo foi reconhecido cedo pela investigação científica, o papel do GABA como neurotransmissor(20). É sintetizado via *shunt do GABA* (assim chamado por ser uma via alterna do ciclo de Krebs), em interneurónios inibitórios a partir do glutamato (razão pela qual a absorção neuronal deste neurotransmissor excitatório se correlaciona com a produção de GABA e com a força inibitória neuronal(21)), pela enzima descarboxilase do ácido glutâmico-1 (GAD) (enzima na qual se conhecem dois clones - GAD 65 e GAD 67, com diferentes afinidades para o glutamato e diferentes cofactores, sugerindo regulações independentes(22)). O principal precursor do GABA *in vivo* é a glicose, embora o piruvato e outros aminoácidos possam servir como substrato; é armazenado em neurónios pré-sinápticos inibitórios, libertando-se para o espaço sináptico aquando da sua estimulação elétrica e removido rapidamente por proteínas transportadoras com alta afinidade. A sua

administração (ou de análogos estruturais) exógena produz efeitos semelhantes aos do GABA endógeno nas células alvo(23).

Para além de atuar como o principal mecanismo inibitório do cérebro adulto, com intuito de regular o grau de excitação glutamatérgica, e organizar espaço-temporalmente os padrões de atividade do córtex cerebral(24), o GABA tem também um papel importante na plasticidade pré e pós-natal dos neurónios inibitórios, regulando não só a sua migração ao longo do Sistema Nervoso Central(25), como da sua ramificação axonal para estabelecimento de sinapses(26).

São conhecidos dois tipos de alvos GABA: os recetores GABA-A ionotrópicos e GABA-B metabotrópicos:

a. O recetor GABA-A é um canal de cloro dependente de ligando (semelhante aos recetores nicotínicos neuromusculares)(27), na sua maioria situados em neurónios pós-sinápticos, com grande relevância farmacológica pelo seu contributo importante na "cognição, aprendizagem, memória e desenvolvimento de ansiedade, esquizofrenia, alterações do sono e epilepsia, entre outros"(28). Foram conhecidos por provocarem uma corrente rápida de cloro, bloqueada pela bicuculina e picrotoxina e com o muscimol como agonista(29). Estes canais de cloro são predominantemente inibitórios (seletivos para aniões), uma vez que estabilizam a membrana perto do seu potencial de repouso; no entanto, tem sido encontrado um papel excitatório do GABA e do seu recetor GABA-A nas fases precoces do desenvolvimento com neurónios imaturos onde existe uma maior concentração intracelular de cloro, levando ao início de uma despolarização excitatória ao invés de uma hiperpolarização inibitória(30). A variabilidade relativamente à permeabilidade ao bicarbonato dos vários subtipos de recetores GABA-A, pode também contribuir para este mecanismo(31).

GABA-A é uma proteína transmembranar constituída por uma ansa cys pentamérica, cuja conformação na membrana forma um poro através do qual passam aniões; cada subunidade é constituída por um terminal N-hidrofílico extracelular, quatro hélices transmembranares (M1-M4) com uma ansa citoplasmática entre M3-M4 (que poderá influenciar a condutividade do canal)(32), e um terminal carboxílico citoplasmático curto. M2, com possível auxílio de M1, formam o revestimento do poro(33).

Nos mamíferos existem seis grandes tipo de subunidades (α 1-6, β 1-3, γ 1-3, δ , ϵ , θ)(34), codificadas através de 19 genes agrupados ao longo do genoma (a

transcrição de três das sequências resultam na formação das subunidades ρ)(35). Cada uma das delas e dos seus subtipos pode combinar-se com outros quatro, formando assim muitas combinações com seletividades diferentes, sendo o arranjo mais comum composto por duas cadeias *alfa*, duas *betas* e uma *gama* ou *delta*(36), mas podendo variar entre as diferentes subunidades existentes consoante estamos a falar de um recetor sináptico ou extrassináptico(37). O local ativo de ligação do GABA situa-se entre as subunidades *alfa* e *beta*, no entanto, compostos como as benzodiazepinas ligam-se alostericamente entre as subunidades *alfa* e *gama*, e mesmo dentro dessas sabe-se que as subunidades $\alpha 4/6$ são insensíveis às 1,4-benzodiazepinas clássicas(38).

Um outro tipo de recetores foi descrito, não sendo bloqueados pela bicuculina (Não-A) nem ativados pelo baclofeno (Não-B). Foram encontrados em várias regiões do sistema nervoso central, mas inicialmente isolados na retina. São estruturas homopentaméricas (subunidade ρ), com função e sequência de aminoácidos semelhantes às dos recetores GABA-A, ainda que insensíveis às benzodiazepinas, barbitúricos e anestésicos gerais em doses terapêuticas(39). Apesar de inicialmente designados por recetores GABA-C são hoje considerados parte da família dos recetores A.

Estes recetores regulam a excitabilidade cortical através de dois grandes mecanismos: a inibição tónica, e a inibição fásica rápida:

- A inibição tónica resulta de uma distribuição alargada de GABA pelos espaços extra e peri-sinápticos, resultando numa hiperpolarização das membranas dos neurónios circundantes(40). É realizada por recetores altamente sensíveis aos GABA, que podendo conter subunidades γ , contém não raras vezes subunidades δ , que estão excluídas das sinapses(41). Em algumas células este mecanismo reflete mais de 50% da condutividade celular de cloro(42), com interneurónios cuja libertação de GABA se destina apenas para este fim(43).

- Por outro lado a inibição fásica, ação classicamente associada aos recetores GABA-A, é mediada pela libertação de GABA nas fendas sinápticas, que é restrita no tempo e no espaço, causando uma subida, seguida de uma descida rápida de condutância de cloro(44).

b. Os recetores GABA-B foram reconhecidos aquando da pesquisa de resposta ao GABA no sistema nervoso periférico. São proteínas que respondem ao GABA, mas que têm propriedades farmacológicas diferentes: por um lado não são inibidos pela bicuculina, por outro são ativados alostericamente pelo beta-clorofenil GABA (baclofeno), um antiespástico sem afinidade para os recetores GABA-A(45).

É um heterodímero composto por duas proteínas GABA-B1 e GABA-B2, ambas de elevado peso molecular e compostas por sete domínios transmembranares e uma cadeia N-terminal extracelular longa(46). No seu estado inativo, o GABA-B1 permanece ligado ao retículo endoplasmático. Quando existem agonistas, o GABA-B2 induz a libertação do GABA-B1 para a membrana e dimerizam, de modo a ativarem proteínas G que lhe estão acopladas(24). É da junção do GABA-B1 com GABA-B2 que se forma um recetor GABA funcional (mecanismo que existe predominantemente em neurónios pré-sinápticos).

Funcionalmente, o recetor GABA-B2 inibe a adenilciclase basal, bem como a ativada pela forskolina, o que resulta na diminuição do cAMP intracelular(47). Pode também aumentar a concentração de cAMP em resposta a agonistas acoplados a proteínas Gs como a isoprenalina, mas não em membranas neuronais isoladas, o que sugere ativação de ciclasas citoplasmáticas(48).

Por outro lado, a sua ativação altera também a condutividade neuronal para o cálcio e o potássio. Atua principalmente nos canais de cálcio pré-sinápticos (diminuindo o seu influxo) e nos canais de potássio pós-sinápticos, o que resulta numa diminuição da duração dos potenciais de ação anterógrados, e na diminuição da libertação de neurotransmissores excitatórios(49).

A regulação do GABA e da sua atividade é um processo complexo e que articula todos os componentes do seu metabolismo, principalmente as enzimas responsáveis pela sua síntese, reabsorção dos precursores e do próprio GABA e degradação e sequestro após sinapse.

A regulação das isoformas da descarboxilase do glutamato é fundamental para que exista GABA na quantidade suficiente nos interneurónios e se exerça a sua função reguladora. A GAD 67, enzima presente ao longo de toda a célula, aumenta a transcrição e produção do seu mRNA na presença de aumentos de atividade glutamatérgica quer fisiológica quer patológica(50). A interação da GAD65, mais associada aos terminais sinápticos, com a VGAT (transportador do GABA para dentro das vesículas pré-sinápticas) sugere um mecanismo acoplado de formação e incorporação do GABA em vesículas de modo a que este possa ser libertado(51).

A reabsorção neuronal de glutamato pelo seu transportador membranar EAAC1 (também chamado EAAT3) parece ser também um mecanismo importante de modulação do sistema GABA, uma vez que os neurónios inibitórios possuem formas maduras de GAD65 e GAD67(52). Um mecanismo indireto de absorção de glutamato, via glutamina, pelos seus sistemas N (libertada das células gliais) e A (reabsorvida nos neurónios) também está implicado na síntese de GABA neuronal(53). O transportador SNAT1 da glutamina está também implicado neste processo mas parece relacionado especialmente com neurónios imaturos ou com períodos de aumento de atividade sináptica(54).

Existem ainda nas membranas celulares, quer dos neurónios quer das células gliais transportadores de GABA não vesiculados, permitindo que este atravessasse a membrana de acordo com um gradiente eletroquímico - o que na maioria das vezes resulta na internalização do GABA(55) (despolarizações violentas ou alterações do metabolismo do ferro podem alterar esta direccionalidade). Entre os mais importantes no cérebro humano, estão o GAT 1 neuronal, e o GAT 3 glial (ainda que haja sobreposição entre eles, pelo que a modulação de cada um deles envolverá sempre mais do que um tipo celular)(56). O GAT 1 parece ainda modular o sequestro ativo de GABA do espaço sináptico, modulando assim a magnitude e duração da resposta tanto de GABA A como de GABA B(57).

A metabolização do GABA processa-se dentro das mitocôndrias das células da glia e dos neurónios, onde a transaminase do GABA o degrada em semialdeído succínico e glutamato(58).

Alterações do Mecanismo do GABA na Dependência ao Etanol

A capacidade do etanol interagir com o sistema gabaérgico foi desde cedo aceite, uma vez que produzia efeitos semelhantes aos agonistas conhecidos deste sistema como as benzodiazepinas e os barbitúricos e era frenado pelos antagonistas conhecidos como a picrotoxina e bicuculina(59). A sua preferência por recetores GABA foi inferida também, uma vez que exerce uma ação muito mais forte em sistemas polissinápticos que em sistemas monossinápticos(60).

Outra forte evidência deste mecanismo relaciona-se com a hiperexcitabilidade do sistema nervoso central aquando da suspensão do consumo de álcool (este síndrome de abstinência é um dos critérios para diagnóstico de dependência)(61), aumentando o risco de convulsões, ansiedade, alteração dos padrões do sono entre outros(59).

O consumo agudo de etanol evidencia um perfil gabamimético muito marcado e o seu consumo crónico leva a uma série de alterações neurobiológicas, que resultam no desenvolvimento de tolerância a muitos dos efeitos gabaérgicos do etanol, nomeadamente a sedação, descoordenação motora, ou alterações cognitivas. Tais factos sugerem que, após exposição crónica, há uma diminuição de afinidade dos recetores GABA aos seus substratos principais(62).

Após a descoberta da ultraestrutura dos recetores GABA A foi sugerido que diferentes combinações de subunidades pudessem levar a diferentes funções do mesmo recetor (por exemplo, recetores $\alpha 4\beta 2\gamma 2$ tem menos afinidade para o GABA e seus agonistas, que os recetores $\alpha 1\beta 2\gamma 2$)(63). A noção de que a capacidade funcional do recetor GABA A estava fortemente relacionada com a subunidade que é expressa, levantou a hipótese de que a exposição crónica ao etanol pudesse alterar o tipo de subunidades expostas à superfície das membranas neuronais, sem a alteração do seu número(64).

Estudos subsequentes confirmaram isto mesmo, ao relatarem uma diminuição da expressão do mRNA de $\alpha 1$ (65, 66), $\alpha 2$ (66, 67), $\alpha 3$ (67), $\alpha 5$ (66) e dos péptidos correspondentes no córtex cerebral, bem como um aumento da expressão de $\alpha 4$ (65), $\beta 1$ (68), $\beta 2$ (68), $\beta 3$ (68), $\gamma 1$ (65), $\gamma 2$ (65). A diminuição de $\alpha 1$, a subunidade mais expressa do córtex cerebral, bem como o aumento de $\alpha 4$, que virtualmente não é expressa no cérebro exceto no tálamo, giro denteado e estriado(69) (apesar de estar relacionada com funções importantes como a diminuição do síndrome de abstinência de esteroides(70)) são fortes indícios de que o etanol produz efeitos marcados a nível neurobiológico.

Outro facto conhecido é que a alteração da expressão de subunidades é diferente em diferentes partes do cérebro(64). Por exemplo, apesar da exposição crónica ao etanol aumentar a expressão de $\alpha 4$ no córtex e hipotálamo(65), parece diminuí-la na amígdala e *núcleo accumbens* e não a alterar no hipocampo(71). Esta regionalidade das alterações do etanol parece justificar as diferentes exposições de álcool necessárias para se obter o mesmo nível de tolerância relativamente aos diferentes sintomas. Este efeito parece ser também relacionado com o tempo de exposição, uma vez que exposições mais longas parecem aumentar a expressão de $\alpha 4$ no hipocampo(65). Baixas concentrações de etanol parecem ainda aumentar a inibição tónica do giro denteado modulada pela subunidade δ (72).

Esta alteração de subunidades relaciona-se também com a sua localização

celular, por exemplo, a subunidade $\alpha 4$, previamente extrassináptica passa a ser expressa na sinapse, em detrimento da subunidade $\alpha 1$ (65). Isto provoca uma alteração nas correntes tónicas, uma vez que diminui a afinidade do GABA nos recetores extrassinápticos e a aumenta na sinapse(73). Estas alterações culminam na diminuição da sensibilidade às benzodiazepinas, e no aumento da sensibilidade ao Ro15-4513, um agonista inverso das subunidades $\alpha 4$ e antagonista do etanol(74). Esta regulação positiva das subunidades $\alpha 4$ está associada a um aumento da sensibilidade do efeito ansiolítico do etanol(75).

A exposição crónica ao etanol parece não só induzir ou frenar a transcrição dos genes das subunidades dos recetores GABA A, como também interferir na sua internalização ou expressão à superfície da membrana(76). Neste contexto parece haver um aumento da internalização mediada pela clatrina das subunidades $\alpha 1$, sem haver alteração nas subunidades $\alpha 4$, cujos peptídeos estão aumentados(77). O processo é mediado pela fosforilação da proteína cínase C (PKC) que diminui a ligação dos recetores ao complexo adaptador (AP) 2, ligação esta que é necessária para a internalização pela clatrina. Ou seja, as subunidades $\alpha 4$, $\beta 2$ e $\beta 3$ contêm locais de fosforilação pela PKC(78), tornando-se irreconhecíveis pelo complexo adaptador 2, não sendo então envolvidos e internalizados pela clatrina(79). O processo inverso parece também ser verificado, ou seja a não fosforilação pela PKC promove ativamente a ligação ao AP2 e a endocitose dos recetores(80), o que acontece com as subunidades $\alpha 1$, $\alpha 2$ e $\alpha 3$.

Podem estar ainda envolvidas outro tipo de cínases nomeadamente a proteína cínase A (PKA), que parece estar associada ao aumento da expressão à superfície da subunidade $\alpha 1$ dos recetores(81), e cuja expressão e tradução é influenciada pela exposição crónica ao etanol(82). Uma vez que estas proteínas se encontram em zonas específicas e restritas do cérebro, estas alterações podem ser responsáveis por alguns dos sintomas comportamentais associados à dependência, tolerância e abstinência alcoólica(82).

Parece ainda haver regulação cruzada entre o sistema GABA e outros sistemas influenciados pelo etanol (nomeadamente o sistema do glutamato, da glicina, da serotonina, entre outros)(62). A administração de dizocilpina, um antagonista não competitivo dos recetores N-methyl-D-aspartato (NMDA), aumenta a expressão das subunidades $\alpha 4$, e a diminuição da expressão de $\alpha 2$, $\beta 2$ e $\beta 3$, de uma maneira semelhante ao etanol(83). Este efeito é mediado por correntes de cálcio,

que uma vez quelado, bloqueia estas alterações do recetor GABA A(84). O glutamato aumenta ainda a concentração de PKC α e γ dentro dos neurónios hipocampais, aumentando a internalização seletiva de subunidades do GABA A(85).

A serotonina, um outro alvo principal do etanol, tem efeitos semelhantes aos do glutamato. Pode ainda ser responsável pelo aumento da libertação de GABA, uma vez que apesar de ser um neurotransmissor excitatório, também está presente em neurónios inibitórios, podendo haver libertação simultânea(86). A dopamina e os recetores β -adrenérgicos exercem a sua regulação através da regulação da PKA(62) (tais mecanismos parecem estar também envolvidos na sintomatologia depressiva ou mesmo psicótica deste pacientes).

Outras moléculas são ainda responsáveis por estas alterações fenotípicas do recetor GABA. Por exemplo, o fator neurotrópico cerebral (BDNF); consumo crónico e concomitante de BDNF e de etanol parece atenuar as alterações gabaérgicas induzidas pelo etanol. O BDNF aumenta a expressão da subunidade $\alpha 6$, alteração essa que é bloqueada pela administração concomitante de álcool, pelo que não deve ser apenas este o seu mecanismo(87). O fator de necrose tumoral α (TNF α), está aumentado na exposição crónica ao etanol(88), parecendo estar envolvido na diminuição da expressão da subunidade $\alpha 1$ à superfície(89).

Apesar de todas estas alterações documentadas na ultraestrutura do recetor GABA A, o efeito do etanol parece não ser reproduzido quando se encontram em sistema isolado, pelo que outros mecanismos parecem estar envolvidos no perfil gabamimético induzido pelo etanol(90, 91).

Um dos mecanismos apontados poderá ser o aumento de libertação do GABA induzido por corticoesteroides neuroativos. A administração aguda de álcool induz uma resposta semelhante ao stresse no eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal, com aumento da produção de corticoesteroides neuroativos, nomeadamente desoxicorticoesterona e 3 α ,5 α -tetrahidroprogesterona (THP)(92), que têm uma ação gabaérgica contribuindo para a ação ansiolítica, sedativa, anticonvulsivante e cognitiva do etanol(93).

A administração crónica, no entanto, tem um efeito menos marcado. Há uma adaptação ao stresse e o consumo da mesma quantidade de álcool deixa de produzir efeitos tão marcados, desenvolvendo-se um processo de tolerância(94). Concomitantemente, há também diminuição destes mesmos compostos no plasma, podendo levar a alterações sistémicas, se este consumo se der na fase de crescimento(95).

A atuação do etanol não se limita aos recetores pós-sinápticos, uma vez que variados estudos revelaram que há aumento da libertação de GABA na sinapse através de ativação de mecanismos pré-sinápticos, nomeadamente recetores acoplados a proteínas G, entre eles os recetores GABA B.

Existem três grandes tipos de proteínas G envolvidas no mecanismo de libertação do GABA: as proteínas G_{α_s} e G_{α_q} , que quando ativadas aumentam a libertação do GABA e a proteína G_{α_i} , inibitória, que diminui a sua libertação.

Exemplos desta função são diferentes consoante a região do cérebro abordada. Na amígdala central o etanol ativa o recetor do fator libertador da corticotropina (CRF) 1, que estando acoplado a uma proteína G_{α_s} aumenta a libertação do GABA. Em ratos dependentes de etanol há aumento da transcrição do gene do recetor CRF1, aumentando assim o número de recetores e o seu efeito pré-sináptico(96). O mesmo acontece na área tegmental ventral, por intermédio do recetor da serotonina 5-HT_{2C}, acoplado a uma proteína G_{α_q} (97). Nos interneurónios cerebelares, bem como na amígdala basolateral é a inibição da proteína G_{α_i} que medeia este efeito, através dos recetores dos canabinóides CB1 e do recetor GABA B(98). Os recetores da orfanina/nociceptina têm o mesmo efeito na amígdala central(99).

Para além de atuar nos recetores acoplados a proteína G, o etanol tem ainda como função aumentar os substratos naturais desses mesmos recetores, potenciando assim a libertação do GABA. Por exemplo, os interneurónios gabaérgicos da amígdala central sintetizam CRF(100), e os neurónios da área tegmental ventral são enervados por aferentes serotoninérgicos(101).

Este mecanismo parece manter-se quando a exposição passa de aguda a crónica, ou seja, não há tolerância ao etanol no que toca à libertação aumentada de GABA(102), pelo que terá de haver um outro mecanismo que explique a diluição do perfil gabamimético num indivíduo dependente.

A importância da genética

Estudos em gémeos monozigóticos, famílias biológicas e adotadas, favorecem a hipótese de que existem polimorfismos genéticos que podem suscetibilizar os indivíduos ao desenvolvimento de dependência do álcool(103).

A maioria das alterações genéticas encontradas nos estudos genómicos em humanos associam-se a alterações nas enzimas do metabolismo do álcool(104, 105). Relativamente ao sistema GABA foram encontrados polimorfismos do gene GABRA2,

responsável pela expressão da subunidade $\alpha 2$ do recetor do GABA A que parecem associados ao desenvolvimento de dependência(106). Este efeito do gene GABRA2 não é específico para a dependência de etanol, já tendo sido associado a dependência de heroína, cocaína ou de múltiplas drogas em simultâneo(107).

Os resultados da associação do GABRA2 com o desenvolvimento de dependência do etanol são controversos. Parece haver correlação entre a deleção deste gene, com o aumento dos efeitos sedativos e atáxicos do consumo agudo de álcool (efeito este que poderá estar relacionado com a localização das subunidades $\alpha 2$ nos cornos anteriores e posteriores da medula espinal), apesar de não haver aumento da procura de bebidas alcoólicas(107). Aparenta ainda haver uma associação entre genótipos do GABRA2, bem como alterações eletroencefalográficas associadas a aumento da suscetibilidade de dependência com um índice de massa corporal aumentado em mulheres(108). Outros estudos parecem ainda relacionar as alterações do GABRA2 com uma alteração da atividade do eletroencefalograma, e não com um fenótipo de dependência, que se mostrou muito mais heterogéneo(109). Ainda neste âmbito, alguns estudos demonstram que só haverá associação entre o gene GABRA2 e a dependência de álcool na presença de outras comorbilidades, como por exemplo, a dependência concomitante de outras drogas(110).

Independentemente de se estudar apenas um gene específico, ou de utilizarem técnicas de pesquisa alargada a todo o genoma, estes polimorfismos encontrados parecem ter pouca utilidade clínica, apesar de lhes ser reconhecido algum potencial para o aumento do seu valor preditivo quando se conhecerem mais algumas da grande quantidade de variáveis que possivelmente contribuem para o aumento do risco de desenvolvimento de dependência(105).

- Moduladores que interferem com o GABA - possíveis alvos terapêuticos

As alterações neurobiológicas explicitadas anteriormente têm demonstrado alguma importância no desenvolvimento de novas armas terapêuticas no tratamento da dependência de etanol, que é, como todas as dependências, extremamente difícil de abordar.

O flumazenil, um antagonista dos recetores GABA A, usado atualmente para o tratamento de intoxicações por benzodiazepinas, parece ter alguma relevância na diminuição dos sintomas de ansiedade induzidos pela abstinência alcoólica. Este efeito parece advir da modulação quer da transcrição quer da quantidade de peptídeos da subunidade $\alpha 4$ induzidas pela dependência de etanol, sem alterar

qualquer das outras alterações supracitadas. O mecanismo pelo qual este fármaco consegue estas respostas ainda não é conhecido(111).

Paradoxalmente, o flumazenil antagoniza as ações da dihidromiricetina, um componente da medicina tradicional, que parece não só contrariar os efeitos do consumo agudo de álcool, como os sintomas da abstinência, nomeadamente o aumento da ansiedade e da atividade convulsivante. Estudos em ratos mostraram uma diminuição abrupta do consumo aquando da exposição a este composto, que parece antagonizar a potenciação dos recetores GABA induzida pelo etanol num contexto agudo, bem como as suas alterações plásticas num contexto de consumo crónico (tanto da alteração da resposta dos recetores GABA pré e pós sinápticos, bem como o aumento da expressão das subunidades $\alpha 4$)(112).

A nicotina é outro dos composto que parece influenciar os recetores GABA de uma forma a alterar os sintomas associados à síndrome de abstinência. Estudos mostram que os sintomas são menos marcados em indivíduos fumadores do que em indivíduos não fumadores, provavelmente através da diminuição da biodisponibilidade dos recetores GABA A na presença de nicotina. Este conhecimento é importante na medida em que existe uma elevada comorbilidade entre estas duas dependências e a sua abordagem conjunta, apesar de ainda não ser protocolada, deve ser cuidada no sentido de evitar recaídas(113).

Outro dos potenciais fármacos candidatos ao tratamento da dependência parece ser o baclofeno, um agonista seletivo dos recetores GABA B, atualmente utilizado como agente antiespasmódico na esclerose múltipla, paralisia cerebral e outras doenças neurológicas. Este fármaco parece diminuir a procura de álcool, e as suas propriedades de recompensa e diminuir os sintomas de abstinência através da supressão da libertação de dopamina pelos recetores GABA B em corpos celulares de neurónios dopaminérgicos. Outra das grandes vantagens deste fármaco é a sua excreção renal, o que permite um perfil terapêutico seguro em doentes com cirrose hepática secundária ou não. Estudos pré-clínicos ainda estão a ser realizados de modo a aferir as doses corretas e o perfil de segurança do fármaco, bem como o seu uso noutro tipo de dependência, o que é importante devido ao à elevada prevalência de comorbilidade entre substâncias(114).

O papel da gabapentina, análogo do GABA e potente anticonvulsivante, está também em estudo. Tal como o baclofeno tem um perfil seguro e uma excreção urinária, permitindo o seu uso em doentes cirróticos. O seu mecanismo de ação parece advir da inibição seletiva dos canais de cálcio dependentes de voltagem,

aumentando a neurotransmissão de GABA, bem como modulação dos recetores NMDA. O estudo do seu uso na diminuição dos sintomas da abstinência foram muito promissores, bem como na diminuição da procura ativa de álcool e "*craving*"(114).

CONCLUSÕES

O sistema gabaérgico é de vital importância para o SNC, sendo o seu principal mecanismo inibitório que equilibra o potencial excitatório que, quando aumentado, pode ter efeitos marcadamente nefastos. É também um dos alvos principais do etanol, quer no seu consumo agudo, quer para o desenvolvimento de dependência. As suas alterações provocam não só o perfil gabamimético da exposição aguda ao álcool com sedação, descoordenação motora, entre outros, como alterações neurobiológicas crónicas, a nível das moléculas envolvidas, que culminam no desenvolvimento de tolerância e redução de sintomas agudos.

As alterações das subunidades do receptor Gaba A induzidas pelo etanol poderão vir a ser um alvo relativamente específico e sensível para o tratamento do etanol. Este alvo poderá ser a nível molecular, com o desenvolvimento de antagonistas seletivos para as subunidades alteradas, nomeadamente a $\alpha 4$ em detrimento da $\alpha 1$, que está marcadamente sub-expressa. O facto das alterações se localizarem predominantemente na fenda sináptica é um dado importante, uma vez que é possível o desenvolvimento de moléculas que atuem apenas nessa zona.

A regionalidade destas alterações pode também ser um factor adjuvante na pesquisa de terapêuticas com menos efeitos laterais para o tratamento do alcoolismo. Para isto, no entanto, é necessário não só uma pesquisa mais aprofundada de quais alterações interferem em que região cerebral, bem como de moléculas que interajam apenas nessa área e não noutra.

Por outro lado, uma possível atuação a montante dos receptores, nomeadamente interferindo quer na transcrição, quer na configuração dos receptores, induzindo ou frenando a sua expressão à superfície pode ainda constituir outro alvo terapêutico relativamente apelativo.

O principal impedimento ao uso deste conhecimento, já tão vasto, mas ainda tão superficial, é a universalidade quer da atuação do GABA, quer das alterações induzidas pelo etanol, o que torna a pesquisa por um alvo terapêutico um tanto ou quanto frustrante. Por exemplo, a modulação do GABA é apenas uma das ações moleculares do etanol, que interage também com o glutamato e com a serotonina. A modulação do sistema GABA pode, não só não produzir efeitos na dependência, ou

na necessidade de obtenção do álcool, como pode produzir efeitos secundários graves, como atividade convulsivante e sintomas psicóticos, entre outros.

O estado atual da investigação genética é ainda muito preliminar e apesar de já mostrar algumas alterações que podem ser eventualmente importantes, grande parte dos polimorfismos encontrados não podem ser associados à dependência. A pesquisa de cada vez mais *loci* e a relação entre eles pode ser um dado importante na evolução do conhecimento científico nesta área.

A dependência do etanol é globalmente reconhecida como uma patologia multifatorial, no entanto o estudo dos vários sistemas envolvidos trará garantidamente algumas respostas relativamente ao seu desenvolvimento, bem como possibilitará o progresso de novas estratégias terapêuticas.

Por isto, concluo que, apesar do grande número de estudos encontrados e da avultada quantidade de pesquisa já efetuada, ainda é necessária uma investigação mais aprofundada sobre as alterações específicas do etanol, bem como na sua possível terapêutica, de modo a que, no futuro, estes mecanismos possam ser usados na clínica de uma maneira segura e eficaz.

CONFLITO DE INTERESSES

A autora declara não haver conflitos de interesse.

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Doutor Manuel Esteves aceitar orientar o meu trabalho dando-me a oportunidade de explorar uma área na qual tenho um grande interesse.

Agradeço ainda ao José Amaral pelas correções ortográficas e pelo entusiasmo com que recebeu este pedido. Muito obrigada.

REFERÊNCIAS

1. American Psychiatric Association., American Psychiatric Association. Task Force on DSM-IV. Diagnostic and statistical manual of mental disorders : DSM-IV. 4th ed. Washington, DC: American Psychiatric Association; 1994. xxvii, 886 p. p.
2. Organization. WH. Lexicon of alcohol and drug terms. 1994.
3. Organization. WH. Global Status Report on Alcohol and Health. 2011 ISBN 978 92 4 156415 1.
4. McKillop IH, Schrum LW. Role of alcohol in liver carcinogenesis. Semin Liver Dis. 2009 May;29(2):222-32. PubMed PMID: 19387921. Epub 2009/04/24. eng.
5. Grant BF. Age at smoking onset and its association with alcohol consumption and DSM-IV alcohol abuse and dependence: results from the National Longitudinal Alcohol Epidemiologic Survey. Journal of substance abuse. 1998;10(1):59-73. PubMed PMID: 9720007.

6. Piano MR. The cardiovascular effects of alcohol: the good and the bad: how low-risk drinking differs from high-risk drinking. *The American journal of nursing*. 2005 Jul;105(7):87, 9-91. PubMed PMID: 15995407.
7. Jelski W, Alizade Sani T, Szmitkowski M. [Effects of ethanol on circulatory system]. *Polski merkuriusz lekarski : organ Polskiego Towarzystwa Lekarskiego*. 2006 Sep;21(123):299-302. PubMed PMID: 17163195. Wpływ alkoholu etylowego na układ krążenia.
8. Ridley NJ, Draper B, Withall A. Alcohol-related dementia: an update of the evidence. *Alzheimer's research & therapy*. 2013 Jan 25;5(1):3. PubMed PMID: 23347747.
9. Eaton DK, Kann L, Kinchen S, Shanklin S, Flint KH, Hawkins J, et al. Youth risk behavior surveillance - United States, 2011. *Morbidity and mortality weekly report Surveillance summaries*. 2012 Jun 8;61(4):1-162. PubMed PMID: 22673000.
10. Wedegaertner F, Geyer S, Arnhold-Kerri S, Sittaro NA, Te Wildt B. Alcohol use disorder-related sick leave and mortality: a cohort study. *Addiction science & clinical practice*. 2013;8(1):3. PubMed PMID: 23363536. Pubmed Central PMCID: 3565982.
11. Dick DM, Foroud T. Candidate genes for alcohol dependence: a review of genetic evidence from human studies. *Alcoholism, clinical and experimental research*. 2003 May;27(5):868-79. PubMed PMID: 12766633.
12. Chastain G. Alcohol, neurotransmitter systems, and behavior. *The Journal of general psychology*. 2006 Oct;133(4):329-35. PubMed PMID: 17128954.
13. Lehmann K, Steinecke A, Bolz J. GABA through the ages: regulation of cortical function and plasticity by inhibitory interneurons. *Neural plasticity*. 2012;2012:892784. PubMed PMID: 22792496. Pubmed Central PMCID: 3390141.
14. Martin DL, Olsen RW. *GABA in the nervous system : the view at fifty years*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2000. xiii, 510 p. p.
15. Lewis DA, Hashimoto T. Deciphering the disease process of schizophrenia: the contribution of cortical GABA neurons. *International review of neurobiology*. 2007;78:109-31. PubMed PMID: 17349859.
16. Kang JQ, Barnes G. A common susceptibility factor of both autism and epilepsy: functional deficiency of GABA A receptors. *Journal of autism and developmental disorders*. 2013 Jan;43(1):68-79. PubMed PMID: 22555366.
17. Breese GR, Criswell HE, Carta M, Dodson PD, Hanchar HJ, Khisti RT, et al. Basis of the gabamimetic profile of ethanol. *Alcoholism, clinical and experimental research*. 2006 Apr;30(4):731-44. PubMed PMID: 16573592. Pubmed Central PMCID: 2958095.
18. Trincavelli ML, Da Pozzo E, Daniele S, Martini C. The GABAA-BZR complex as target for the development of anxiolytic drugs. *Current topics in medicinal chemistry*. 2012;12(4):254-69. PubMed PMID: 22204488.
19. Schousboe A, Madsen KK, White HS. GABA transport inhibitors and seizure protection: the past and future. *Future medicinal chemistry*. 2011 Feb;3(2):183-7. PubMed PMID: 21428813.
20. Krnjevic K, Schwartz S. Is gamma-aminobutyric acid an inhibitory transmitter? *Nature*. 1966 Sep 24;211(5056):1372-4. PubMed PMID: 5969831.
21. Mathews GC, Diamond JS. Neuronal glutamate uptake Contributes to GABA synthesis and inhibitory synaptic strength. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2003 Mar 15;23(6):2040-8. PubMed PMID: 12657662.
22. GABA synthesis, uptake and release. In: George J Siegel BWA, R Wayne Albers, Stephen K Fisher, Michael D Uhler, PhD, editor. *Basic Neurochemistry*. 6th ed. Philadelphia: Lippincott-Raven;; 1999.

23. Krnjevic K. Chemical Nature of Synaptic Transmission in vertebrates. *Physiological Reviews*. 54:1974. p. 419-505.
24. Roth FC, Draguhn A. GABA metabolism and transport: effects on synaptic efficacy. *Neural plasticity*. 2012;2012:805830. PubMed PMID: 22530158. Pubmed Central PMCID: 3316990.
25. Duveau V, Laustela S, Barth L, Gianolini F, Vogt KE, Keist R, et al. Spatiotemporal specificity of GABAA receptor-mediated regulation of adult hippocampal neurogenesis. *The European journal of neuroscience*. 2011 Aug;34(3):362-73. PubMed PMID: 21722213.
26. Wu X, Fu Y, Knott G, Lu J, Di Cristo G, Huang ZJ. GABA signaling promotes synapse elimination and axon pruning in developing cortical inhibitory interneurons. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2012 Jan 4;32(1):331-43. PubMed PMID: 22219294.
27. Schofield PR, Darlison MG, Fujita N, Burt DR, Stephenson FA, Rodriguez H, et al. Sequence and functional expression of the GABA A receptor shows a ligand-gated receptor super-family. *Nature*. 1987 Jul 16-22;328(6127):221-7. PubMed PMID: 3037384.
28. Johnston GA. GABA(A) receptor channel pharmacology. *Current pharmaceutical design*. 2005;11(15):1867-85. PubMed PMID: 15974965.
29. Levy RA, Anderson EG. The effect of the GABA antagonists bicuculline and picrotoxin on primary afferent terminal excitability. *Brain research*. 1972 Aug 11;43(1):171-80. PubMed PMID: 4340463.
30. Ben-Ari Y, Khalilov I, Kahle KT, Cherubini E. The GABA excitatory/inhibitory shift in brain maturation and neurological disorders. *The Neuroscientist : a review journal bringing neurobiology, neurology and psychiatry*. 2012 Oct;18(5):467-86. PubMed PMID: 22547529.
31. Rivera C, Voipio J, Payne JA, Ruusuvuori E, Lahtinen H, Lamsa K, et al. The K⁺/Cl⁻ co-transporter KCC2 renders GABA hyperpolarizing during neuronal maturation. *Nature*. 1999 Jan 21;397(6716):251-5. PubMed PMID: 9930699.
32. Peters JA, Hales TG, Lambert JJ. Molecular determinants of single-channel conductance and ion selectivity in the Cys-loop family: insights from the 5-HT₃ receptor. *Trends in pharmacological sciences*. 2005 Nov;26(11):587-94. PubMed PMID: 16194573.
33. Corringer PJ, Le Novère N, Changeux JP. Nicotinic receptors at the amino acid level. *Annual review of pharmacology and toxicology*. 2000;40:431-58. PubMed PMID: 10836143.
34. Akabas MH. GABAA receptor structure-function studies: a reexamination in light of new acetylcholine receptor structures. *International review of neurobiology*. 2004;62:1-43. PubMed PMID: 15530567.
35. Simon J, Wakimoto H, Fujita N, Lalande M, Barnard EA. Analysis of the set of GABA(A) receptor genes in the human genome. *The Journal of biological chemistry*. 2004 Oct 1;279(40):41422-35. PubMed PMID: 15258161.
36. Baur R, Minier F, Sigel E. A GABA(A) receptor of defined subunit composition and positioning: concatenation of five subunits. *FEBS letters*. 2006 Mar 6;580(6):1616-20. PubMed PMID: 16494876.
37. Olsen RW, Sieghart W. GABA A receptors: subtypes provide diversity of function and pharmacology. *Neuropharmacology*. 2009 Jan;56(1):141-8. PubMed PMID: 18760291. Pubmed Central PMCID: 3525320.
38. Derry JM, Dunn SM, Davies M. Identification of a residue in the gamma-aminobutyric acid type A receptor alpha subunit that differentially affects diazepam-sensitive and -insensitive benzodiazepine site binding. *Journal of neurochemistry*. 2004 Mar;88(6):1431-8. PubMed PMID: 15009644.

39. Bormann J, Feigenspan A. GABAC receptors. *Trends in neurosciences*. 1995 Dec;18(12):515-9. PubMed PMID: 8638289.
40. Semyanov A, Walker MC, Kullmann DM. GABA uptake regulates cortical excitability via cell type-specific tonic inhibition. *Nature neuroscience*. 2003 May;6(5):484-90. PubMed PMID: 12679782.
41. Nusser Z, Mody I. Selective modulation of tonic and phasic inhibitions in dentate gyrus granule cells. *Journal of neurophysiology*. 2002 May;87(5):2624-8. PubMed PMID: 11976398.
42. Banks MI, Pearce RA. Kinetic differences between synaptic and extrasynaptic GABA(A) receptors in CA1 pyramidal cells. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2000 Feb 1;20(3):937-48. PubMed PMID: 10648698.
43. Jones SM, Palmer MJ. Activation of the tonic GABAC receptor current in retinal bipolar cell terminals by nonvesicular GABA release. *Journal of neurophysiology*. 2009 Aug;102(2):691-9. PubMed PMID: 19494193. Pubmed Central PMCID: 2724346.
44. Bartos M, Vida I, Frotscher M, Geiger JR, Jonas P. Rapid signaling at inhibitory synapses in a dentate gyrus interneuron network. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2001 Apr 15;21(8):2687-98. PubMed PMID: 11306622.
45. Hill DR, Bowery NG. 3H-baclofen and 3H-GABA bind to bicuculline-insensitive GABA B sites in rat brain. *Nature*. 1981 Mar 12;290(5802):149-52. PubMed PMID: 6259535.
46. Marshall FH, Jones KA, Kaupmann K, Bettler B. GABAB receptors - the first 7TM heterodimers. *Trends in pharmacological sciences*. 1999 Oct;20(10):396-9. PubMed PMID: 10498952.
47. Knight AR, Bowery NG. The pharmacology of adenylyl cyclase modulation by GABAB receptors in rat brain slices. *Neuropharmacology*. 1996 Jun;35(6):703-12. PubMed PMID: 8887979.
48. Alger BE, Möhler H. *Pharmacology of GABA and glycine neurotransmission*. Berlin ; New York: Springer; 2001. xxi, 413 p. p.
49. Curtis DR, Gynther BD, Lacey G, Beattie DT. Baclofen: reduction of presynaptic calcium influx in the cat spinal cord in vivo. *Experimental brain research Experimentelle Hirnforschung Experimentation cerebrale*. 1997 Mar;113(3):520-33. PubMed PMID: 9108218.
50. Lau CG, Murthy VN. Activity-dependent regulation of inhibition via GAD67. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2012 Jun 20;32(25):8521-31. PubMed PMID: 22723692. Pubmed Central PMCID: 3388776.
51. Jin H, Wu H, Osterhaus G, Wei J, Davis K, Sha D, et al. Demonstration of functional coupling between gamma -aminobutyric acid (GABA) synthesis and vesicular GABA transport into synaptic vesicles. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2003 Apr 1;100(7):4293-8. PubMed PMID: 12634427. Pubmed Central PMCID: 153086.
52. Conti F, DeBiasi S, Minelli A, Rothstein JD, Melone M. EAAC1, a high-affinity glutamate transporter, is localized to astrocytes and gabaergic neurons besides pyramidal cells in the rat cerebral cortex. *Cerebral cortex*. 1998 Mar;8(2):108-16. PubMed PMID: 9542890.
53. Broer S, Brookes N. Transfer of glutamine between astrocytes and neurons. *Journal of neurochemistry*. 2001 May;77(3):705-19. PubMed PMID: 11331400.
54. Melone M, Quagliano F, Barbaresi P, Varoqui H, Erickson JD, Conti F. Localization of the glutamine transporter SNAT1 in rat cerebral cortex and

neighboring structures, with a note on its localization in human cortex. *Cerebral cortex*. 2004 May;14(5):562-74. PubMed PMID: 15054072.

55. Attwell D, Barbour B, Szatkowski M. Nonvesicular release of neurotransmitter. *Neuron*. 1993 Sep;11(3):401-7. PubMed PMID: 8104430.

56. Ribak CE, Tong WM, Brecha NC. GABA plasma membrane transporters, GAT-1 and GAT-3, display different distributions in the rat hippocampus. *The Journal of comparative neurology*. 1996 Apr 15;367(4):595-606. PubMed PMID: 8731228.

57. Kinney GA. GAT-3 transporters regulate inhibition in the neocortex. *Journal of neurophysiology*. 2005 Dec;94(6):4533-7. PubMed PMID: 16135550.

58. Ciesielski L, Simler S, Gensburger C, Mandel P, Taillandier G, Benoit-Guyod JL, et al. GABA transaminase inhibitors. *Advances in experimental medicine and biology*. 1979;123:21-41. PubMed PMID: 390993.

59. Grobin AC, Matthews DB, Devaud LL, Morrow AL. The role of GABA(A) receptors in the acute and chronic effects of ethanol. *Psychopharmacology*. 1998 Sep;139(1-2):2-19. PubMed PMID: 9768538.

60. Berry MS, Pentreath VW. The Neurophysiology of Alcohol. *Psychopharmacology of Alcohol*. 1980:43-72.

61. McCown TJ, Breese GR. Multiple withdrawals from chronic ethanol "kindles" inferior collicular seizure activity: evidence for kindling of seizures associated with alcoholism. *Alcoholism, clinical and experimental research*. 1990 Jun;14(3):394-9. PubMed PMID: 2378423.

62. Kumar S, Porcu P, Werner DF, Matthews DB, Diaz-Granados JL, Helfand RS, et al. The role of GABA(A) receptors in the acute and chronic effects of ethanol: a decade of progress. *Psychopharmacology*. 2009 Sep;205(4):529-64. PubMed PMID: 19455309. Pubmed Central PMCID: 2814770.

63. Whittemore ER, Yang W, Drewe JA, Woodward RM. Pharmacology of the human γ -aminobutyric acidA $\alpha 4$ subunit expressed in *Xenopus laevis* oocytes. *Mol Pharmacol*. 1996;50:1365-75.

64. Grobin AC, Fritschy JM, Morrow AL. Chronic ethanol administration alters immunoreactivity for GABA(A) receptor subunits in rat cortex in a region-specific manner. *Alcoholism, clinical and experimental research*. 2000 Aug;24(8):1137-44. PubMed PMID: 10968650.

65. Cagetti E, Liang J, Spigelman I, Olsen RW. Withdrawal from chronic intermittent ethanol treatment changes subunit composition, reduces synaptic function, and decreases behavioral responses to positive allosteric modulators of GABAA receptors. *Mol Pharmacol*. 2003 Jan;63(1):53-64. PubMed PMID: 12488536.

66. Mhatre MC, Ticku MK. Chronic ethanol administration alters gamma-aminobutyric acidA receptor gene expression. *Mol Pharmacol*. 1992 Sep;42(3):415-22. PubMed PMID: 1383684.

67. Mhatre MC, Ticku MK. Chronic GABA treatment downregulates the GABAA receptor alpha 2 and alpha 3 subunit mRNAs as well as polypeptide expression in primary cultured cerebral cortical neurons. *Brain research Molecular brain research*. 1994 Jul;24(1-4):159-65. PubMed PMID: 7968353.

68. Mhatre M, Ticku MK. Chronic ethanol treatment upregulates the GABA receptor beta subunit expression. *Brain research Molecular brain research*. 1994 May;23(3):246-52. PubMed PMID: 8057781.

69. Chandra D, Jia F, Liang J, Peng Z, Suryanarayanan A, Werner DF, et al. GABAA receptor alpha 4 subunits mediate extrasynaptic inhibition in thalamus and dentate gyrus and the action of gaboxadol. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2006 Oct 10;103(41):15230-5. PubMed PMID: 17005728. Pubmed Central PMCID: 1578762.

70. Smith SS, Gong QH, Hsu FC, Markowitz RS, French-Mullen JM, Li X. GABA(A) receptor alpha4 subunit suppression prevents withdrawal properties of an endogenous steroid. *Nature*. 1998 Apr 30;392(6679):926-30. PubMed PMID: 9582073.
71. Papadeas S, Grobin AC, Morrow AL. Chronic ethanol consumption differentially alters GABA(A) receptor alpha1 and alpha4 subunit peptide expression and GABA(A) receptor-mediated $^{36}\text{Cl}^-$ uptake in mesocorticolimbic regions of rat brain. *Alcoholism, clinical and experimental research*. 2001 Sep;25(9):1270-5. PubMed PMID: 11584145.
72. Wei W, Faria LC, Mody I. Low ethanol concentrations selectively augment the tonic inhibition mediated by delta subunit-containing GABAA receptors in hippocampal neurons. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2004 Sep 22;24(38):8379-82. PubMed PMID: 15385620.
73. Liang J, Zhang N, Cagetti E, Houser CR, Olsen RW, Spigelman I. Chronic intermittent ethanol-induced switch of ethanol actions from extrasynaptic to synaptic hippocampal GABAA receptors. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2006 Feb 8;26(6):1749-58. PubMed PMID: 16467523.
74. Mhatre M, Mehta AK, Ticku MK. Chronic ethanol administration increases the binding of the benzodiazepine inverse agonist and alcohol antagonist [3H]RO15-4513 in rat brain. *European journal of pharmacology*. 1988 Aug 9;153(1):141-5. PubMed PMID: 2850926.
75. Sundstrom-Poromaa I, Smith DH, Gong QH, Sabado TN, Li X, Light A, et al. Hormonally regulated alpha(4)beta(2)delta GABA(A) receptors are a target for alcohol. *Nature neuroscience*. 2002 Aug;5(8):721-2. PubMed PMID: 12118257. Pubmed Central PMCID: 2887346.
76. Kumar S, Fleming RL, Morrow AL. Ethanol regulation of gamma-aminobutyric acid A receptors: genomic and nongenomic mechanisms. *Pharmacology & therapeutics*. 2004 Mar;101(3):211-26. PubMed PMID: 15031000.
77. Kumar S, Kralic JE, O'Buckley TK, Grobin AC, Morrow AL. Chronic ethanol consumption enhances internalization of alpha1 subunit-containing GABAA receptors in cerebral cortex. *Journal of neurochemistry*. 2003 Aug;86(3):700-8. PubMed PMID: 12859683.
78. McDonald BJ, Moss SJ. Conserved phosphorylation of the intracellular domains of GABA(A) receptor beta2 and beta3 subunits by cAMP-dependent protein kinase, cGMP-dependent protein kinase protein kinase C and Ca^{2+} /calmodulin type II-dependent protein kinase. *Neuropharmacology*. 1997 Oct;36(10):1377-85. PubMed PMID: 9423925.
79. Herring D, Huang R, Singh M, Robinson LC, Dillon GH, Leidenheimer NJ. Constitutive GABAA receptor endocytosis is dynamin-mediated and dependent on a dileucine AP2 adaptin-binding motif within the beta 2 subunit of the receptor. *The Journal of biological chemistry*. 2003 Jun 27;278(26):24046-52. PubMed PMID: 12707262.
80. Terunuma M, Xu J, Vithlani M, Sieghart W, Kittler J, Pangalos M, et al. Deficits in phosphorylation of GABA(A) receptors by intimately associated protein kinase C activity underlie compromised synaptic inhibition during status epilepticus. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2008 Jan 9;28(2):376-84. PubMed PMID: 18184780. Pubmed Central PMCID: 2917223.
81. Ives JH, Drewery DL, Thompson CL. Differential cell surface expression of GABAA receptor alpha1, alpha6, beta2 and beta3 subunits in cultured mouse cerebellar granule cells influence of cAMP-activated signalling. *Journal of neurochemistry*. 2002 Jan;80(2):317-27. PubMed PMID: 11902122.

82. Newton PM, Messing RO. Intracellular signaling pathways that regulate behavioral responses to ethanol. *Pharmacology & therapeutics*. 2006 Jan;109(1-2):227-37. PubMed PMID: 16102840.
83. Matthews DB, Kralic JE, Devaud LL, Fritschy JM, Marrow AL. Chronic blockade of N-methyl-D-aspartate receptors alters gamma-aminobutyric acid type A receptor peptide expression and function in the rat. *Journal of neurochemistry*. 2000 Apr;74(4):1522-8. PubMed PMID: 10737609.
84. Robello M, Amico C, Cupello A. A dual mechanism for impairment of GABAA receptor activity by NMDA receptor activation in rat cerebellum granule cells. *European biophysics journal : EBJ*. 1997;25(3):181-7. PubMed PMID: 9037753.
85. Buchner K, Adamec E, Beermann ML, Nixon RA. Isoform-specific translocation of protein kinase C following glutamate administration in primary hippocampal neurons. *Brain research Molecular brain research*. 1999 Feb 5;64(2):222-35. PubMed PMID: 9931492.
86. Lovinger DM. 5-HT3 receptors and the neural actions of alcohols: an increasingly exciting topic. *Neurochemistry international*. 1999 Aug;35(2):125-30. PubMed PMID: 10405996.
87. Ericson M, Haythornthwaite AR, Yeh PW, Yeh HH. Brain-derived neurotrophic factor mitigates chronic ethanol-induced attenuation of gamma-aminobutyric acid responses in cultured cerebellar granule cells. *Journal of neuroscience research*. 2003 Sep 1;73(5):722-30. PubMed PMID: 12929140.
88. Crews FT, Bechara R, Brown LA, Guidot DM, Mandrekar P, Oak S, et al. Cytokines and alcohol. *Alcoholism, clinical and experimental research*. 2006 Apr;30(4):720-30. PubMed PMID: 16573591.
89. Stellwagen D, Beattie EC, Seo JY, Malenka RC. Differential regulation of AMPA receptor and GABA receptor trafficking by tumor necrosis factor-alpha. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2005 Mar 23;25(12):3219-28. PubMed PMID: 15788779.
90. Criswell HE, Breese GR. A conceptualization of integrated actions of ethanol contributing to its GABAergic profile: a commentary. *Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*. 2005 Aug;30(8):1407-25. PubMed PMID: 15856077.
91. Fleming RL, Manis PB, Morrow AL. The effects of acute and chronic ethanol exposure on presynaptic and postsynaptic gamma-aminobutyric acid (GABA) neurotransmission in cultured cortical and hippocampal neurons. *Alcohol*. 2009 Dec;43(8):603-18. PubMed PMID: 20004338. Pubmed Central PMCID: 2796564.
92. Morrow AL, Porcu P, Boyd KN, Grant KA. Hypothalamic-pituitary-adrenal axis modulation of GABAergic neuroactive steroids influences ethanol sensitivity and drinking behavior. *Dialogues in clinical neuroscience*. 2006;8(4):463-77. PubMed PMID: 17290803. Pubmed Central PMCID: 3181829.
93. Barbaccia ML, Scaccianoce S, Del Bianco P, Campolongo P, Trezza V, Tattoli M, et al. Cognitive impairment and increased brain neurosteroids in adult rats perinatally exposed to low millimolar blood alcohol concentrations. *Psychoneuroendocrinology*. 2007 Sep-Nov;32(8-10):931-42. PubMed PMID: 17689019.
94. Spencer RL, McEwen BS. Adaptation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis to chronic ethanol stress. *Neuroendocrinology*. 1990 Nov;52(5):481-9. PubMed PMID: 2126355.
95. de Water E, Braams BR, Crone EA, Peper JS. Pubertal maturation and sex steroids are related to alcohol use in adolescents. *Hormones and behavior*. 2013 Feb;63(2):392-7. PubMed PMID: 23229027.

96. Roberto M, Cruz MT, Gilpin NW, Sabino V, Schweitzer P, Bajo M, et al. Corticotropin releasing factor-induced amygdala gamma-aminobutyric Acid release plays a key role in alcohol dependence. *Biological psychiatry*. 2010 May 1;67(9):831-9. PubMed PMID: 20060104. Pubmed Central PMCID: 2883449.
97. Theile JW, Morikawa H, Gonzales RA, Morrisett RA. Role of 5-hydroxytryptamine_{2C} receptors in Ca²⁺-dependent ethanol potentiation of GABA release onto ventral tegmental area dopamine neurons. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2009 May;329(2):625-33. PubMed PMID: 19225162. Pubmed Central PMCID: 2672866.
98. Kelm MK, Criswell HE, Breese GR. The role of protein kinase A in the ethanol-induced increase in spontaneous GABA release onto cerebellar Purkinje neurons. *Journal of neurophysiology*. 2008 Dec;100(6):3417-28. PubMed PMID: 18945815. Pubmed Central PMCID: 2604841.
99. Kelm MK, Criswell HE, Breese GR. Ethanol-enhanced GABA release: a focus on G protein-coupled receptors. *Brain research reviews*. 2011 Jan 1;65(2):113-23. PubMed PMID: 20837058. Pubmed Central PMCID: 3005894.
100. Veinante P, Stoeckel ME, Freund-Mercier MJ. GABA- and peptide-immunoreactivities co-localize in the rat central extended amygdala. *Neuroreport*. 1997 Sep 8;8(13):2985-9. PubMed PMID: 9376543.
101. Herve D, Pickel VM, Joh TH, Beaudet A. Serotonin axon terminals in the ventral tegmental area of the rat: fine structure and synaptic input to dopaminergic neurons. *Brain research*. 1987 Dec 1;435(1-2):71-83. PubMed PMID: 2892580.
102. Roberto M, Madamba SG, Stouffer DG, Parsons LH, Siggins GR. Increased GABA release in the central amygdala of ethanol-dependent rats. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*. 2004 Nov 10;24(45):10159-66. PubMed PMID: 15537886.
103. Kimura M, Higuchi S. Genetics of alcohol dependence. *Psychiatry and clinical neurosciences*. 2011 Apr;65(3):213-25. PubMed PMID: 21507127.
104. Agrawal A, Bierut LJ. Identifying genetic variation for alcohol dependence. *Alcohol research : current reviews*. 2012;34(3):274-81. PubMed PMID: 23134043.
105. Edenberg HJ. Genes contributing to the development of alcoholism: an overview. *Alcohol research : current reviews*. 2012;34(3):336-8. PubMed PMID: 23134049.
106. Dixon CI, Walker SE, King SL, Stephens DN. Deletion of the *gabra2* gene results in hypersensitivity to the acute effects of ethanol but does not alter ethanol self administration. *PloS one*. 2012;7(10):e47135. PubMed PMID: 23115637. Pubmed Central PMCID: 3480382.
107. Onori N, Turchi C, Solito G, Gesuita R, Buscemi L, Tagliabracci A. GABRA2 and alcohol use disorders: no evidence of an association in an Italian case-control study. *Alcoholism, clinical and experimental research*. 2010 Apr;34(4):659-68. PubMed PMID: 20102561.
108. Bauer LO, Yang BZ, Houston RJ, Kranzler HR, Gelernter J. GABRA2 genotype, impulsivity, and body mass. *The American journal on addictions / American Academy of Psychiatrists in Alcoholism and Addictions*. 2012 Sep-Oct;21(5):404-10. PubMed PMID: 22882390.
109. Lydall GJ, Saini J, Ruparel K, Montagnese S, McQuillin A, Guerrini I, et al. Genetic association study of GABRA2 single nucleotide polymorphisms and electroencephalography in alcohol dependence. *Neuroscience letters*. 2011 Aug 18;500(3):162-6. PubMed PMID: 21683760.
110. Agrawal A, Edenberg HJ, Foroud T, Bierut LJ, Dunne G, Hinrichs AL, et al. Association of GABRA2 with drug dependence in the collaborative study of the

genetics of alcoholism sample. Behavior genetics. 2006 Sep;36(5):640-50. PubMed PMID: 16622805.

111. Biggio F, Gorini G, Caria S, Murru L, Sanna E, Follesa P. Flumazenil selectively prevents the increase in alpha(4)-subunit gene expression and an associated change in GABA(A) receptor function induced by ethanol withdrawal. Journal of neurochemistry. 2007 Aug;102(3):657-66. PubMed PMID: 17403139.

112. Shen Y, Lindemeyer AK, Gonzalez C, Shao XM, Spigelman I, Olsen RW, et al. Dihydromyricetin as a novel anti-alcohol intoxication medication. The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience. 2012 Jan 4;32(1):390-401. PubMed PMID: 22219299. Pubmed Central PMCID: 3292407.

113. Cosgrove KP, Esterlis I, Mason GF, Bois F, O'Malley SS, Krystal JH. Neuroimaging insights into the role of cortical GABA systems and the influence of nicotine on the recovery from alcohol dependence. Neuropharmacology. 2011 Jun;60(7-8):1318-25. PubMed PMID: 21276806. Pubmed Central PMCID: 3078950.

114. Addolorato G, Leggio L, Hopf FW, Diana M, Bonci A. Novel therapeutic strategies for alcohol and drug addiction: focus on GABA, ion channels and transcranial magnetic stimulation. Neuropsychopharmacology : official publication of the American College of Neuropsychopharmacology. 2012 Jan;37(1):163-77. PubMed PMID: 22030714. Pubmed Central PMCID: 3238087.

Normas para a publicação no Jornal Brasileiro de Psiquiatria

Types of articles accepted:

The *Brazilian Journal of Psychiatry* publishes the following types of manuscripts:

- Original articles – Reports of original studies based on scientific excellence in psychiatry and providing advances in clinical and experimental research. Original articles must contain new data derived from a representative number of participants and employ sound and adequate methods. Articles must not exceed 4,000 words.
- Brief Communications – Short reports of original studies, evaluations, or pilot data, containing no more than 2,000 words and 15 references.
- Reviews – Concise and objective systematic articles designed to bring together updated and relevant information about a specific topic of particular importance and interest in psychiatry and mental health. Authors are required analyze and discuss the available literature. It should contain a maximum of 6,000 words.
- Case reports – They should provide a short original description of clinical cases and treatment strategies of particular interest for researchers or clinicians. One could cite as examples uncommon presentations of a known disorder, an innovative treatment, and a not previously reported side effect unequivocally related to a specific medication. They must contain a detailed, yet concise and chronologically-ordered description of the cases, highlighting its relevance and originality. Authors must provide a comprehensive literature review about the clinical and therapeutics aspects of the reported topic, comparing their reports with similar cases described in the international scientific literature. Case and series reports should not exceed 1,500 words and 15 references.
- Letters to the Editor– Communications discussing articles recently published in the journal or describing original researches or meaningful scientific discoveries. Letters should have no more than 500 words and five references.
- Editorials – Critical comments and made by researchers with expertise in a specific area of knowledge at the editors' invitation. They must contain a maximum of 900 words and five references.
- Book reviews – Brief reviews (maximum of 500 words) about recently published books within the scope of the *Brazilian Journal of Psychiatry* that may interest the psychiatry and mental health professionals.

Originality and authorship

The *Brazilian Journal of Psychiatry* only considers for publication manuscripts consisting of original material that are not currently under consideration for publication or have not been published elsewhere. The only exceptions are abstracts with less than 400 words. Authors must identify tables, figures, and/or any other material that have been published elsewhere, and permission from the copyright owners must be obtained before reproducing or modifying the materials. In submitting a manuscript, the editors understand that the authors comply with this requirement, and that all of them have substantially participated in the work and have personally reviewed and given final approval of the version submitted. Therefore, each author is required to declare his or her individual contribution to the article in the cover letter (see below) and in the manuscript, in a section after the "Conclusions" entitled "Individual contributions".

Conflicts of interest and financial disclosures

The *Brazilian Journal of Psychiatry* demands that all authors individually report any potential conflicts of interest and/or any kind of financial support for the study obtained within the last 3 years and for the foreseeable future. This disclosure includes, but is not limited to, stock options/ownership, grants, stipends, employments, affiliations, royalties, inventions, relationship with sponsoring organizations (governmental, nonprofit, and/or commercial sources), lectures and speakers bureau for any pharmaceutical company, patents (filed, received, pending, or in preparation), travel funds; regardless of value or amount. If one or more authors have no conflicts of interest to disclose, this must be explicitly stated (eg, Drs. Leme Lopes and Nobre de Mello have no conflicts of interest to report). Interested authors can read an editorial about this subject, entitled "Beyond conflict of interest", in the British Medical Journal available at: <http://www.bmj.com/cgi/content/full/317/7154/281>.

The conflicts of interest and financial disclosures must be written as a discrete section entitled "Conflicts of Interest", after the "Individual contributions" section.

Ethical issues

The *Brazilian Journal of Psychiatry* considers ethical integrity a cornerstone for scientific research and care of human beings. Therefore, in the section entitled "Methods", authors are required to identify the licensing and the institutional review board or committee that reviewed and approved the research. Also, in cases of studies involving human subjects, authors must clearly state that all participants agreed and signed the informed consent form, and must describe the methods used to evaluate the capacity of subject to understand and give informed consent, and strategies used in the study to ensure the protection of human subjects. Finally, in cases of studies involving animals, authors must declare that institutional and national guidelines for the care and use of laboratory animals were strictly followed.

Clinical Trial Registration

Before submitting a manuscript to be considered for publication in the *Brazilian Journal of Psychiatry*, clinical trials must be registered in a public trials registry. A clinical trial is herein defined as any research that prospectively enrolls human subjects or groups to one or more interventions (pharmacological or not) to estimate its impacts on health outcomes. These trials can be registered before or at the onset of subjects' enrollment. To be considered valid, a public trial registry must be freely accessible to the public, must be electronically searchable, opened to all prospective registrants and managed by a non-profit organization. Some examples are the National Institutes of Health Clinical Trials (<http://www.clinicaltrials.gov>), the Netherlands Trial Register (<http://www.trialregister.nl>), the UMIN Clinical Trials Registry (<http://www.umin.ac.jp/ctr>), and the Brazilian Registry of Clinical Trials (<http://www.ensaioclinic.gov.br>), among others. The trial name and its URL, the public trial registry name and its URL, as well as the registration number, must be included immediately after the conflicts of interest disclosure.

Overall Structure of the Manuscript

Abbreviations should be avoided; official abbreviations, however, may be used, keeping in mind that the first mention of a term in the text must be complete, followed by its abbreviation between brackets. Authors must use generic names of medications, as opposed to its trade names.

All pages must be numbered, with total words count indicated at the first page

(except for abstracts, both in Portuguese and in English, references, pictures and illustrations).

The first page should contain the Title and the Running Head (both in English and in Portuguese), as well as the manuscript's total word count, and the authors' names and affiliations. Article titles should not contain acronyms. The Running Head should contain a total of up to 50 characters (with spaces) and no more than five words. Different from the Title, the Running Head must also appear at the top of each page of the manuscript (in the same language that the manuscript was written).

The second page must contain an abstract in Portuguese and the trial registration information (when applicable, see above). The abstract must be informative, clearly and concisely describing the manuscripts' content in no more than 250 words. In original articles, brief communications and reviews, abstracts have to be structured in four topics: objective(s), methods, results and conclusions. A maximum of five key words in Portuguese should follow the abstract. They should, if possible, be drawn from the MeSH list of Index Medicus and be chosen with a view to useful cross-indexing of the article. For articles written in Portuguese, these terms are available at *Descritores de Ciências da Saúde*, published by BIREME.

The third page must contain the abstract and key words in English both of which must be identical to their versions in Portuguese.

The fourth page should contain the entire or the beginning of the Introduction section. In original articles, brief reports, and reviews, the Introduction section must be followed by the sections Methods, Results, Discussion, Conclusions, Individual Contributions, Conflicts of Interest, Acknowledgments, and References in this order. Although the *Journal of Brazilian Psychiatry* does not stipulate a maximum number of pages, authors must always respect the maximum number of words and references allowed to each kind of article accepted. Tables and figures should come after the references, be cited in the text, and their desired position in the manuscript should be indicated.

Introduction – Must contain a concise review of any literature directly related to the topic, as well as the aim of the study.

Methods – Must depict the model of study and a detailed description of the methods employed, in order to permit its replication by other authors.

Results – Must be described logically, sequentially and concisely, with the occasional help of tables and illustrations.

Discussion – The discussion must be limited to highlighting the conclusions of the study, consider any similarities or differences with the results of other authors, implications of the findings, limitations and future perspectives.

Conclusions – Authors must specify, preferentially in a short paragraph, solely the conclusions the study data allow to support, together with their clinical significance (avoiding excessive generalizations).

Individual contributions – Manuscript must include the specific contributions made by each author in this section. For being considered an author, each collaborator must meet at least all the following conditions: (1) had substantially contributed

to conception and design or analysis and interpretation of data; (2) had substantially contributed to drafting the article or revising it critically for important intellectual content; and (3) had given the final approval of the version to be published.

Conflicts of interest - Each author must disclose any potential conflict of interest that might have the potential to have biased the study (whether financial or not). If one or more author has no conflict of interest to declare, this must be explicitly stated (see Section Conflicts of Interest and Financial Disclosures)

Acknowledgments - In this section, authors must recognize personal and technical assistance, as well as provide detailed information regarding all sources of grants and other modalities of material or financial support.

References - Must be presented in Vancouver style ("Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Medical Publication" [http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html]) in the same order they were quoted in the text, as shown in the following examples.

Articles:

- Versiani M. A review of 19 double-blind placebo-controlled studies in social anxiety disorder (social phobia). *World J Biol Psychiatry*. 2000;1(1):27-33.
- Appolinario JC, McElroy SL. Pharmacological approaches in the treatment of binge eating disorder. *Curr Drug Targets*. 2004;5(3):301-7.
- Dekker J, Wijdenes W, Koning Y A, Gardien R, Hermandes-Willenborg L, Nusselder H, et al. Assertive community treatment in Amsterdam. *Community Ment Health J*. 2002;38:425-34.

Books:

- Goodwin FFK, Jamison KR. *Manic-Depressive Illness*. New York: Oxford University Press; 1990.

Book chapter:

- Heimberg RG, Juster HR. Cognitive-behavioral treatments: literature review. In: Heimberg RG, Liebowitz MR, Hope DA, Schneier FR, editors. *Social Phobia – Diagnosis Assessment and Treatment*. New York: The Guilford Press, 1995.

References to web pages:

- Associação Brasileira de Psiquiatria – Diretrizes para a Indústria da moda. Recomendações da Comissão Técnica Brasileira de Grupos Especializados no Estudo e Tratamento de Transtornos Alimentares. http://www.abpbrasil.org.br/newsletter/comissao_ta/diretrizes_moda.pdf. Accessed on April 12, 2007.

Tables and illustrations - All tables and figures should be formatted in APA style (Publication Manual of the American Psychological Association, Sixth Edition). All of them must be numbered in Arabic numerals, with the respective legends. They should be in a digital format proper for reproduction. Each table must be self-explanatory, and must not repeat the information already

present in the text. Places for table's insertion must be clearly indicated in the text.

Illustrations and photographs must be sent in high resolution files, format.tif or.jpg. Printing will be charged on the authors.